

LES CHIMANINES, NOUVELLES QUINOLEINES SUBSTITUEES EN 2, ISOLEES D'UNE PLANTE BOLIVIENNE ANTIPARASITAIRE: *GALIPEA LONGIFLORA*

A. FOURNET,*

ORSTOM (Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération),
Département Santé, 213, Rue La Fayette, 75480 Paris Cédex 10, France

R. HOCQUEMILLER, F. ROBLOT, A. CAVÉ,

Laboratoire de Pharmacognosie, Laboratoire associé au CNRS, Faculté de Pharmacie,
Rue J.B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cédex, France

P. RICHOMME, et J. BRUNETON

Centre d'Etude des Plantes Médicinales, Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences
Médicales et Pharmaceutiques, 16 Bd. Daviers, 49000 Angers, France

ABSTRACT.—Petroleum ether and CHCl_3 extracts of stem, root bark, and leaves of *Galipea longiflora* were found active in vitro against *Leishmania* sp. and *Trypanosoma cruzi* at 100 $\mu\text{g/ml}$. The activity-guided fractionation of the extracts by chromatography afforded thirteen active compounds identified as 2-substituted quinoline alkaloids. Four new 2-alkylquinoline alkaloids were isolated and identified from leaves or trunk bark of *G. longiflora*: 4-methoxy-2-*n*-propylquinoline [10] (chimanine A), 2-(*E*)-prop-1'-enylquinoline [11] (chimanine B), 4-methoxy-2-(*E*)-prop-1'-enylquinoline [12] (chimanine C), and 2-(1',2'-*trans*-epoxypropyl)-quinoline [13] (chimanine D). These alkaloids are accompanied by eight known 2-substituted quinolines (2-9), and by one known furo-(2,3*b*)-quinoline alkaloid, skimmianine [1].

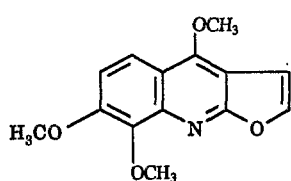
Dans le cadre de l'étude des plantes médicinales boliviennes actives dans le traitement des maladies parasitaires endémiques en Bolivie (1), les leishmanioses et la maladie de Chagas, nous avons étudié la composition chimique d'une Rutacée, *Galipea longiflora* Krause (2). Cette plante est employée traditionnellement par les Indiens Chimanes pour traiter les leishmanioses cutanées. Après une première étude de la composition alcaloïdique des écorces de tiges (3), nous nous sommes intéressés aux produits responsables de l'activité antiparasitaire des écorces de tronc, des écorces de racines et des feuilles. Les principes actifs ont été isolés par guidage biologique, les purifications étant suivies par l'évaluation de l'activité in vitro sur plusieurs espèces de *Leishmania* sp. et de *Trypanosoma cruzi*, et in vivo sur *Leishmania amazonensis* et *Leishmania venezuelensis* (leishmanioses cutanées due Nouveau Monde) et *Leishmania donovani* (leishmaniose viscérale) (4).

Au cours de ce travail, 13 alcaloïdes quinoléiques ont été isolés parmi lesquels une furoquinoléine, la skimmianine [1] et douze 2-alkyl ou 2-aryl quinoléines. La composition alcaloïdique des différentes parties de la plante est résumée dans le Tableau 1.

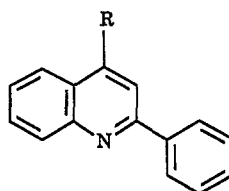
Parmi les treize alcaloïdes actifs identifiés lors de ce travail, sept avaient déjà été isolés lors de l'étude de la composition chimique des écorces de tiges et ont été identifiés par comparaison de leurs données spectrales à celles précédemment publiées (3). Ces alcaloïdes sont les suivants: la skimmianine [1], la 2-phénylquinoléine [2], la 4-méthoxy-2-phénylquinoléine [3], la 2-(3',4'-diméthoxyphényléthyl)-quinoléine [4], la 2-(3',4'-méthylènedioxyphényléthyl)-quinoléine [5], la 4-méthoxy-2-(3',4'-méthylènedioxyphényléthyl)-quinoléine ou cusparine [6] et la 4-méthoxy-2-*n*-pentylquinoléine [7]. Deux autres 2-alkyl quinoléines viennent d'être isolées d'un *Galipea* originaire du Brésil, *Galipea bracteata* (5). Il s'agit de la 2-*n*-pentylquinoléine [8] et de la 2-*n*-propylquinoléine [9], la première possédant des propriétés molluscicides in vitro sur *Biomphalaria glabrata*, un des vecteurs des schistosomias.

27 MARS 1995

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 41534 ex 1
Date : B

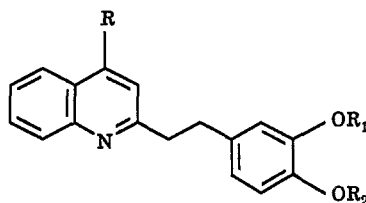
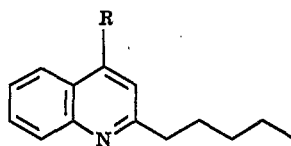


1



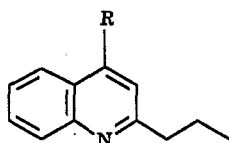
2 R=H

3 R=OMe

4 R=H, R₁=R₂=Me5 R=H, R₁,R₂=CH₂6 R=OMe, R₁,R₂=CH₂

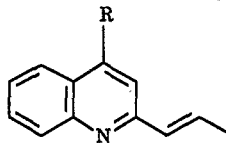
7 R=OMe

8 R=H



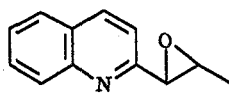
9 R=H

10 R=OMe



11 R=H

12 R=OMe



13

Les alcaloïdes **10** à **13** sont des molécules nouvelles que nous avons appelées chimanines A, B, C, et D en hommage aux Indiens Chimanas qui nous ont donné l'information sur l'usage de *G. longiflora* comme plante antiparasitaire.

L'alcaloïde **10** présente des données spectrales en rmn^1H et ^{13}C proches de celles des quinoléines **7** et **9** (Tableaux 2 et 3). On observe à 7,99, 7,67, 7,45, et 8,15 ppm les signaux correspondants à 4 protons adjacents d'une quinoléine substituée en position 4 par un méthoxyle. Celui-ci résonne à 4,04 ppm comme pour l'alcaloïde **7**, le proton 5 apparaissant à 8,15 ppm au lieu de 7,78 ppm lorsque la position 4 n'est pas substituée. Le singulet à 6,65 ppm, attribuable au proton en 3, confirme la substitution en 2 par une chaîne alkyle. Les spectres de rmn^1H et ^{13}C montrent qu'il s'agit d'un groupe *n*-propyle, ce que confirme le fragment à m/z 173 du $\text{sm}[\text{M}-28]^+$ (100%) obtenu par réarrangement de type rétro-Diels-Alder. L'alcaloïde **10** est donc la 4-méthoxy-2-*n*-propylquinoléine que nous avons appelé chimanine A.

L'alcaloïde **11** est une quinoléine nouvelle possédant une chaîne aliphatique insaturée. Les deux protons du cycle pyridinique apparaissent à 7,49 ppm et 8,06 ppm sous forme de deux doublets avec une constante de couplage de 8,5 Hz ce qui permet de les situer sur les carbones 3 et 4. La molécule est donc substituée en 2 et présente les signaux caractéristiques d'une chaîne propényle à 6,75 ppm (1H, d, $J=16$ Hz), 6,84 ppm

	Ecorces de tronc	Ecorces de racines	Feuilles
Rendement total en alcaloïdes (g/kg)	32	43	7
Alcaloïde	Estimation de la composition alcaloïdique (%)		
	Ecorces de tronc ^a	Ecorces de racines	Feuilles ^a
1		4,0%	1,7%
2	47,7%	66,7%	29%
3	2,8%	3,3%	
4	1,1%		
5	10,2%	6,7%	
6	3,1%	2,0%	
7	1,0%		
8	2,4%	17,3%	
9	1,3%		12,5%
10	2,4%		
11			16,7%
12			0,5%
13			1,7%

^aLe total de la composition alcaloïdique est inférieur à 100% car des mélanges de produits isolés au cours de la séparation, ont été pris en compte pour le calcul du pourcentage.

(1H, qd, $J=6$ et 16 Hz) et 2,01 ppm (3H, d, $J=6$ Hz). La constante de couplage de 16 Hz entre les protons 1' et 2' prouve une configuration trans de la double liaison. L'alcaloïde **11** est donc la 2-(*E*)-prop-1'-énylquinoléine, déjà obtenue par synthèse mais incomplètement décrite (5,6). Sa structure est confirmée par rmn ¹³C, les déplacements chimiques de tous les carbones protonés ayant été attribués sans ambiguïté par corrélation hétéronucléaire avec découplage des protons (XHCORR-D). Nous avons donné à l'alcaloïde d'origine naturelle le nom de chimanine B.

L'alcaloïde **12** présente des données spectrales analogues à celles des alcaloïdes **10** et **11**. Il possède un méthoxyle en position 4 mis en évidence par le déplacement chimique du proton 5 à 8,10 ppm et une chaîne propényle sur le carbone 2. La configuration trans est prouvée par la constante de couplage de 16,7 Hz entre les protons 1' et 2'. Il s'agit donc de la 4-méthoxy-2-(*E*)-prop-1'-énylquinoléine, décrite pour la première fois et baptisée chimanine C.

TABLEAU 2. Rmn de ¹H des Quinoléines **7**, **9**, et **10-13** (CDCl₃, δ, 200 MHz).^a

Proton	Composé					
	7	9	10	11	12	13
H-3	6,63 s	7,31 d	6,65 s	7,49 d	6,81 s	7,24 d
H-4		8,07 d	—	8,06 d	—	8,10 d
H-5	8,15 dd	7,78 dd	8,15 dd	7,75 dd	8,10 dd	7,76 dd
H-6	7,43 td	7,49 td	7,45 td	7,46 td	7,42 td	7,49 td
H-7	7,65 td	7,69 td	7,67 td	7,67 td	7,65 td	7,69 td
H-8	7,97 dd	8,06 dd	7,99 dd	8,04 dd	8,01 dd	8,06 dd
H-1'	2,91 t	2,97 t	2,91 t	6,75 d	6,71 d	3,95 d
H-2'	1,81 sext	1,86 sext	1,86 sext	6,84 qd	6,82 qd	3,18 qd
H-3'	1,40 m	1,03 m	1,05 t	2,01 d	1,99 d	1,51 d
OMe-4	4,04 s		4,04 s	—	4,04 s	—

^aConstantes de couplage: $J_{5,6}=J_{7,8}=8,5$ Hz; $J_{6,7}=8$ Hz; $J_{5,7}=J_{6,8}=0,8$ Hz; $J_{3,4}=8,5$ Hz (**11** et **13**); $J_{1',2'}=7,5$ Hz (**10**), 16 Hz, (**11**), 16,7 Hz (**12**) ou 2 Hz (**13**); $J_{2',3'}=7,5$ Hz (**10**), 6 Hz, (**11**), 5,4 Hz (**12**), ou 5 Hz (**13**).

TABLEAU 3. Rmn de ^{13}C des Quinoléines 7, 9–13 (CDCl_3 , δ , 50 MHz).

Carbone	Composé					
	7	9	10	11	12	13
C-2	164,0	162,9	163,6 ^a	156,4	157,3	157,8
C-3	99,9	121,4	100,0	118,7	97,1	116,5
C-4	163,4	136,1	163,8 ^a	136,2	162,6	136,8
C-5	121,7	126,7	121,7	127,4	121,6	127,5
C-6 ^b	125,4	125,6	125,7	125,8	125,1	126,3
C-7 ^b	126,9	127,5	126,4	129,5	128,1	129,6
C-8	130,5	129,3	130,8	129,1	130,0	128,7
C-9	119,9	128,9	119,8	130,4	120,4	127,6
C-10	143,8	147,9	145,8	148,0	148,3	147,4
C-1'	38,8	41,3	40,3	132,3	132,2	60,2
C-2'	31,7	23,3	23,3	132,7	132,8	58,1
C-3'	29,8	14,0	13,9	18,6	18,5	17,7
OMe-4	55,6	—	56,0	—	55,5	—

^aCes valeurs peuvent être permutées.

^bLes déplacements chimiques de tous les carbones protonés de **11** et **13** ont été prouvés par corrélation hétéronucléaire ^1H - ^{13}C (XHCORRD), les protons étant attribués sans ambiguïté par irradiations sélectives. Dans la référence (5), les valeurs des carbones 6 et 7 doivent être inversées.

L'alkaloïde **13** présente des spectres de rmn ^1H et ^{13}C quasiment superposables à ceux de la chimanine B [**11**] dans la partie aromatique à l'exception du proton en 3 qui apparaît à 7,24 ppm au lieu de 7,49 ppm. Le spectre de rmn de ^{13}C montre que la chaîne en position 2 possède deux carbones tertiaires qui résonnent à 60,2, 58,1 et un méthyle à 17,7 ppm, ce qui permet d'envisager la présence d'un groupement époxyde en 1,2 sur une chaîne propyle. Cette hypothèse est confirmée sur les sm et de rmn ^1H , ce dernier présentant deux protons à 3,95 ppm (d, $J=2$ Hz) et 3,18 ppm (qd, $J=5$ et 2 Hz) caractéristiques de protons géminés à un époxyde et un groupe méthyle apparaissant sous forme d'un doublet à 1,51 ppm. L'attribution des différents carbones est effectuée par comparaison à l'alkaloïde **11** et corrélation ^1H - ^{13}C , les positions des différents protons étant déterminées sans ambiguïté par irradiations sélectives. La stéréochimie de l'époxyde est attribuée grâce à la constante de couplage de 2 Hz entre les protons 1' et 2' qui prouve leur position en trans, qui résulte à l'évidence d'une oxydation de la double liaison trans de la chimanine B. L'alkaloïde **13** est donc un alkaloïde nouveau, la 2-(1',2'-trans-époxypropyl)-quinoléine que nous appelons chimanine D.

Dans cette étude, treize alkaloïdes ont été identifiés à partir de tous les organes de *G. longiflora* provenant du lot n° A. F. 850 (récoltés en Août 1988 à Fatima de Chimanes, Beni, Bolivie). Tous ces alkaloïdes sont de type quinoléines substituées en 2 par des chaînes alkyles ou aryles. Six quinoléines sont communes avec celles isolées précédemment à partir du lot n° A. F. 790 (récolté en septembre 1987 dans la même région) (3). En comparant la composition qualitative en alkaloïdes des deux récoltes de *G. longiflora* étudiées, il apparaît que les quinoléines avec une chaîne styrényle ou pentényle n'ont pas été mises en évidence dans le lot n° A. F. 850, de même qu'aucune quinoléine substituée en 2 par une chaîne propyle n'a été isolée à partir des échantillons de la première récolte (A. F. 790).

Dans ce travail, quatre quinoléines nouvelles ont été isolées et identifiées, les chimanines A, B, C, et D, toutes substituées en 2 par une chaîne propylique. La chimanine B, la 2-(E)-prop-1'-énylquinoléine, est nouvelle à l'état naturel, mais connue de synthèse (6). Les propriétés antileishmaniennes (voir Tableau 4), confirmées sur le modèle animal, ont été jugées suffisamment intéressantes pour justifier la prise d'un brevet (4).

TABLEAU 4. Activité in vitro de Douze Quinoléines Isolées de *Galipea longiflora* sur *Leishmania braziliensis* et *Trypanosoma cruzi*.

Produit	IC ₉₀ (µg/ml)	
	<i>Leishmania braziliensis</i> (2903)	<i>Trypanosoma cruzi</i> (Tulahuen)
Skimmianine [1]	100	100
2-Phénylquinoléine [2]	100	100
4-Méthoxy-2-phénylquinoléine [3]	50	100
2-(3,4-Diméthoxyphényléthyl) quinoléine [4]	100	100
2-(3,4-Méthylènedioxyphényléthyl) quinoléine [5]	100	100
Cusparine [6]	100	100
4-Méthoxy-2- <i>n</i> -pentylquinoléine [7]	100	100
2- <i>n</i> -Pentylquinoléine [8]	100	100
2- <i>n</i> -Propylquinoléine [9]	50	50
Chimanine A [10]	100	100
Chimanine B [11]	25	25
Chimanine D [13]	25	50
Pentamidine	1	—
Antimoniato de méglumine	>100	—
Nifurtimox	—	25
Benznidazole	—	50

La présence de quinoléines substituées en 2 n'est pas très courante dans la nature. Ces dérivés semblent être une caractéristique chimiotaxonomique de la famille des Rutacées et en particulier du genre *Galipea*. L'étude récente d'un *Galipea* brésilien, *G. bracteata* (5) confirmerait cette particularité chimiotaxonomique.

PARTIE EXPERIMENTALE

GÉNÉRALITÉS.—Les points de fusion sont mesurés en tubes capillaires et ne sont pas corrigés. Les spectres sont enregistrés sur les appareils suivants: uv, Philips PU 8725, EtOH [λ max, (log ϵ)]; ir, Perkin-Elmer 257, KBr (ν , cm⁻¹); spectres de rmn ¹H et ¹³C, Bruker AC 200 P, CDCl₃ (δ ppm, CHCl₃, δ =7,27 ppm); sm, Nermag R 1010C (m/z (%)). Les chromatographies sur colonne sont réalisées sous pression de 0,35 bar sur Kieselgel 60 (Merck, 230–400 mesh), les chromatographies couches minces (ccm) sur DC 60 F 254 (Merck 5554), et les produits sont repurifiés au moyen de chromatographie flash sur silice 60 (Merck 230–300 Mesh). Les solvants employés pour les chromatographies sur colonne sont des mélanges d'hexane et d'EtOAc de polarité croissante et pour les ccm hexane-EtOAc (90:10), toluène-EtOAc (95:5 ou 90:10).

MATÉRIEL VÉGÉTAL.—Les écorces de tronc, les écorces de racines, les feuilles, et les graines de *G. longiflora* ont été récoltées par A.F. à Fatima de Chimane (Département du Beni, Bolivie) en Août 1988. Le matériel végétal a été identifié par J.A. Kallunki du New York Botanical Garden, USA. Un échantillon d'herbier est déposé à l'Herbier National de Bolivie à La Paz sous la référence A.F. 850.

ISOLEMENT DES ALCALOÏDES.—Après broyage, les feuilles (3,5 kg), les écorces de tronc (3,5 kg), et les écorces de racines (350 g) de *G. longiflora* sont extraites par l'éther de pétrole, puis par le CHCl₃ après alcalinisation par l'ammoniaque diluée au demi. Tous les extraits contiennent des alcaloïdes et présentent une activité in vitro sur les parasites à la concentration de 100 µg/ml. Les extraits sont ensuite purifiés par passage des alcaloïdes sous forme de sels et chromatographiés sur colonne de silice flash dans différents systèmes de solvants. Les teneurs en alcaloïdes totaux des différentes parties de la plante ainsi que les pourcentage des alcaloïdes isolés sont reportés dans le Tableau 1.

DESCRIPTIONS DES PRODUITS ISOLÉS.—Pour les alcaloïdes 1 à 7, voir Fournet *et al.* (3), et pour les alcaloïdes 8 et 9, voir Vieira et Kubo (5).

Chimanine A ou 4-méthoxy-2-*N*-propylquinoléine [10].—Produit huileux: uv λ max (EtOH) nm (log ϵ) 228 (4,74) 290 (3,81); eims m/z (%) [M]⁺ 201 (14), 200 (20), 186 (60), 173 (100), 130 (51); ¹H rmn (CDCl₃, 200 MHz) voir Tableau 2; ¹³C rmn (CDCl₃, 50 MHz) voir Tableau 3.

Chimanine B ou 2-(E)-prop-1'-énylquinoléine [**11**].—Produit huileux: uv λ max (EtOH) nm (log ϵ) 216 (4,38), 250 (4,50), 285 (3,84); eims m/z (%) [M]⁺ 169 (49), 168 (100), 143 (27), 129 (66), 128 (44); ¹H rmn (CDCl₃, 200 MHz) voir Tableau 2; ¹³C rmn (CDCl₃, 50 MHz) voir Tableau 3.

Chimanine C ou 4-méthoxy-2-(E)-prop-1'-énylquinoléine [**12**].—Produit huileux: uv λ max (EtOH) nm (log ϵ) 249 (4,47), 257 (4,43), 291 (3,87); eims m/z (%) [M]⁺ (CH₄) 228 (36), 200 (100), 199 (35); ¹H rmn (CDCl₃, 200 MHz) voir Tableau 2; ¹³C rmn (CDCl₃, 50 MHz) voir Tableau 3.

Chimanine D ou 2-(1',2'-trans-époxypropyl)-quinoléine [**13**].—Produit huileux: uv λ max (EtOH) nm (log ϵ) 207 (4,53), 234 (4,56), 281 (3,54); eims m/z (%) [M]⁺ 185 (39), 170 (81), 169 (78), 157 (46), 156 (49), 129 (91), 128 (100); ¹H rmn (CDCl₃, 200 MHz) voir Tableau 2; ¹³C rmn (CDCl₃, 50 MHz) voir Tableau 3.

BIBLIOGRAPHIE

1. A. Fournet, A.M. Manjon, V. Muñoz, A. Angelo, J. Bruneton, R. Hocquemiller, D. Cortes, et A. Cavé, *J. Ethnopharmacol.*, **24**, 337 (1988).
2. K. Krause, *Notizbl. K. Bot. Gart. Berlin*, **6**, 143 (1914).
3. A. Fournet, B. Vagneur, P. Richomme et J. Bruneton, *Can. J. Chem.*, **67**, 2116 (1989).
4. A. Fournet, A. Angelo Barrios, V. Muñoz, R. Hocquemiller, F. Roblot, J. Bruneton et P. Richomme, Brevet Français 91 12174.
5. P.C. Vieira et I. Kubo, *Phytochemistry*, **29**, 813 (1990).
6. M. Ishikura, I. Oda, et M. Terashima, *Heterocycles*, **23**, 2375 (1985).

Received 18 February 1993